

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

Master Universitario Oficial de
Agroecología, Desarrollo Rural y Agroturismo



EEFECTO SOBRE LA CALIDAD
POSCOSECHA DE GRANADA
ECOLOGICA POR LA APLICACIÓN DE
JASMONATO DE METILO

TRABAJO FIN DE MASTER

Convocatoria – Julio 2017

AUTOR: David Palamós Claramunt

DIRECTOR: Pedro Javier Zapata Coll

Se autoriza al alumno **Dº David Palamós Claramunt** a realizar el Trabajo Fin de Máster titulado: “EFECTO SOBRE LA CALIDAD POSCOSECHA DE GRANADA ECOLOGICA POR LA APLICACIÓN DE JASMONATO DE METILO” realizado bajo la dirección de **D. Pedro Javier Zapata Coll**, debiendo cumplir las directrices para la redacción del mismo que están a su disposición en la asignatura.

Orihuela, 16 de junio de 2017

ES

Fdo.: Esther Sendra Nadal

Directora del Master Universitario en Agroecología, Desarrollo Rural y Agroturismo





MASTER UNIVERSITARIO OFICIAL DE AGROECOLOGÍA, DESARROLLOR RURAL Y AGROTURISMO

VISTO BUENO DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

CURSO 2016/2017

Director/es del trabajo
Pedro Javier Zapata Coll

Dan su visto bueno al Trabajo Fin de Máster

Título del Trabajo
EFEECTO SOBRE LA CALIDAD POSCOSECHA DE GRANADA ECOLOGICA POR LA APLICACIÓN DE JASMONATO DE METILO
Alumno
David Palamós Claramunt

Orihuela, a 23 de Junio de 2017
Firma/s directores/es trabajo



MASTER UNIVERSITARIO OFICIAL DE AGROECOLOGÍA, DESARROLLOR RURAL Y AGROTURISMO

REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

Título: EFECTO SOBRE LA CALIDAD POSCOSECHA DE GRANADA ECOLÓGICA POR LA APLICACIÓN DE JASMONATO DE METILO

Modalidad: Experimental

Autor: David Palamós Claramunt

Director: Pedro Javier Zapata Coll

Convocatoria: Julio 2017

Número de referencias bibliográficas: 63

Número de figuras: 22

Palabras clave: granado, ecológico, poscosecha, jasmonato de metilo, calidad

RESUMEN:

La granada es un fruto no climatérico que no madura fuera del árbol. La fruta se almacena en refrigeración para prolongar el periodo de comercialización, siendo los daños por frío la problemática principal de pérdida de producto durante el almacenaje. El objetivo de este trabajo es encontrar métodos eficaces para reducir lesiones inducidas por el frío en granada ecológica. Se ha realizado un tratamiento a base de compuesto natural, jasmonato de metilo, para intentar paliar los daños por frío en granada ecológica. El tratamiento consiste en la aplicación de jasmonato de metilo mediante baño de agua a dos

concentraciones 1mM y 10mM. Se ha realizado muestreo en recolección y posteriormente cada 30 días hasta los 90 días en conservación a 10°C y humedad relativa 90%. El estudio se centra en el posible papel del jasmonato de metilo para reducir los daños por frío y para aumentar la vida útil de la granada ecológica durante el almacenamiento prolongado. La fruta control ha resultado mayores niveles de pérdidas de peso, tasa de respiración, producción de etileno, ablandamiento, pardeamiento de color externo de la fruta, y el incremento de concentración de fenoles totales. Las imágenes de coloración interna de la fruta han desvelado una reducción del pardeamiento interno en la fruta tratada con jasmonato de metilo. La fruta tratada con jasmonato de metilo a concentración 10mM ha sido más eficaz, obteniendo ligeramente mejores resultados en todas las determinaciones mencionadas frente a la fruta tratada a concentración 1mM. Los resultados nos sugieren que el tratamiento con jasmonato de metilo es una aplicación potencial en poscosecha para reducir los daños por frío, mantener la calidad y mejorar los beneficios en el consumo de la fruta del granado por el incremento de su capacidad antioxidante.



EFFECTO SOBRE LA CALIDAD POSCOSECHA DE GRANADA ECOLOGICA POR LA APLICACIÓN DE JASMONATO DE METILO

1.- INTRODUCCION

El cultivo del granado ha ido adquiriendo cada vez más importancia y es objeto de interés desde diferentes puntos de vista (agrícola, industrial, alimentario, médico, etc.). Por todo ello, esta especie ha dejado de ser, poco menos que marginal, para adquirir en sus lugares tradicionales de cultivo, la consideración que merece. Como consecuencia de todo ello se trabaja e investiga con el material vegetal.

El granado es conocido desde muy antiguo, su cultivo se ha realizado tradicionalmente en la zona de Oriente próximo, extendiéndose por el resto de Asia y el Mediterráneo. Actualmente, ya extendido por los cinco continentes, presenta unas excepcionales expectativas de cultivo debido a su rentabilidad y a la posibilidad de cultivo en zonas áridas y con menores requerimientos hídricos que otros cultivos, siendo capaz de vegetar y producir en condiciones en las que otros frutales más importantes no lo harían de manera rentable. El conocimiento del material vegetal y la selección de nuevos individuos capaces de dar abundantes cosechas y frutos de calidad, unido al descubrimiento de sus numerosas propiedades alimenticias, farmacológicas, funcionales y cosméticas, ha hecho que este frutal sea cada día más demandado por los consumidores, lo que está provocando, junto a todo lo expuesto anteriormente, un incremento muy considerable de las plantaciones de la especie en todos los países en los que es posible su cultivo.

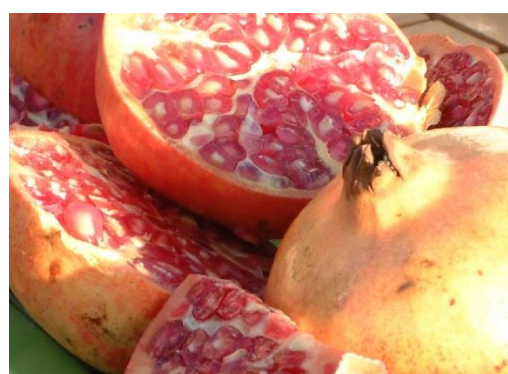


Imagen 1. Cultivo de granado (Elche, Alicante)

1.1.- Origen e Historia

Este árbol es originario de la región que abarca desde Irán hasta el norte de los Himalayas en India, y fue cultivado y naturalizado en toda la región del Mediterráneo incluida Armenia, desde la Antigüedad. Muy apreciado en las zonas desérticas, ya que está protegido de la desecación por su piel gruesa y coriácea, lo que permitía que las caravanas pudieran transportar su fruta grandes distancias, conservando sus apreciadas cualidades. Testimonios de su consumo se recogen en muchos documentos antiguos.

Se sabe del cultivo de la granada, desde hace al menos 5000 años en Asia occidental y en el Norte de África; se plantaba en los jardines colgantes de Babilonia y se encuentra esculpido en los bajorrelieves egipcios.

Los antiguos egipcios preparaban con su jugo un vino ligero con sabor a frambuesa. Hipócrates recomendaba el jugo de la granada contra la fiebre y como fortificante contra la enfermedad. Los antiguos egipcios eran enterrados con granadas. Los babilonios creían que masticar sus granos antes de las batallas los hacía invencibles. Los romanos conocieron la granada gracias a los fenicios que la trajeron de Fenicia (aproximadamente en el actual Líbano) a Roma, de ahí su nombre científico de *Púnica*.

1.2.- Producción e Importancia económica de la ganada ecológica

España es el primer productor y exportador de granadas de la Unión Europea. Más del 90% de las plantaciones comerciales de este frutal están situadas en la zona de Elche (Alicante). La importancia de este cultivo a nivel mundial está aumentando debido a la creciente demanda por parte del consumidor de alimentos de alto nivel nutricional y terapéutico. Como alternativa al cultivo tradicional, en los últimos años se está implantado el cultivo ecológico, dado que existe un sector importante de la población que demanda cada día productos más naturales, más sanos. En algunos frutales como olivo, almendro, viñedo, etc., ya existe una amplia experiencia de cultivo en ecológico, pero son más recientes las explotaciones de granado que se están cultivando en agricultura ecológica. El granado es un cultivo que por la forma de cultivarlo a lo largo de los

años se adapta muy bien al cultivo ecológico. Existen algunas explotaciones que ya lo han implantado con resultados muy buenos en diferentes provincias.

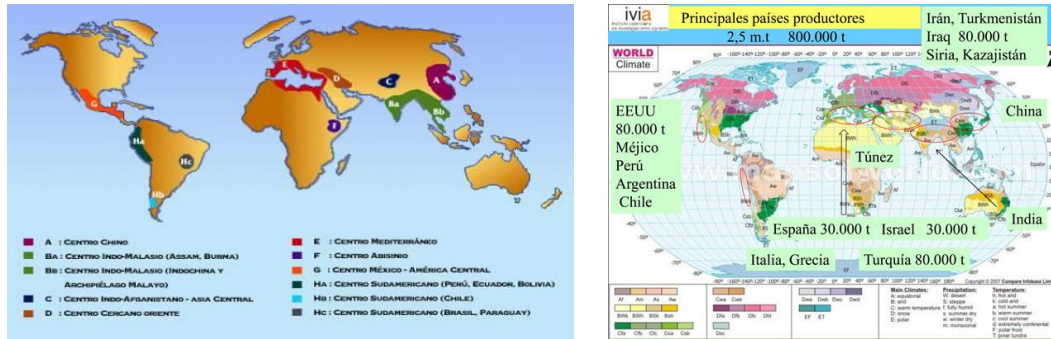


Gráfico 1. Zona de producción y Producción mundial de granadas

A pesar del buen momento que, en general, ha atravesado el sector en España, el aumento de la producción podría afectar negativamente al precio percibido por el agricultor, si no se adoptan medidas que favorezcan el consumo de este producto; en el año 2009 España exportó más de 18.000 t de granadas (estimación por encuesta personal), lo que supondría un porcentaje de exportación entorno al 70%, cifra muy alta si se compara con lo que ocurre en otros frutales cultivados en nuestro país. Por otro lado, muchos países se están convirtiendo en serios competidores de España en el mercado europeo y mundial, como ocurre con Irán, India o Turquía (grandes productores) o con otros de más reciente incorporación al sector (Chile, Perú, Argentina) que exportan tanto a EE.UU. como a Europa. Algunos países del continente americano están creciendo muy considerablemente, especialmente EE.UU., y pronto pueden convertirse en serios competidores de España; también otros países como Sudáfrica o Australia aparecen ya en la lista de productores de granada. En California las granadas se recolectan entre agosto y mediados de noviembre (como en España). EEUU exportó a Japón (17.000 t), también exporta a Canadá, Méjico e Inglaterra, destinando el 80% de su producción a la obtención de zumo, que en 2006 alcanzó los 0,35 \$/Kg, (Simonian, 2007), precio muy interesante para su procesado industrial. Otro referente en América del Sur es Chile, país en el que las exportaciones están creciendo muy rápidamente y que exporta a EEUU y a Europa; aquí la recolección se realiza entre marzo y abril. La superficie

dedicada al cultivo del granado en el mundo se estima en más de 300.000 ha, de las que más del 50% se encuentran en tres países (India, China e Irán) (Gráfico 1); sin embargo, los países que les siguen en superficie (Turquía, EE.UU., España, Egipto e Israel), con superficies entre 16.000 y 2.400 ha, son los de mayor desarrollo en materia de exportaciones, investigación, rendimientos, desarrollo de mercado y nuevas variedades (Quiroz, 2009).

Como alternativa al cultivo tradicional, en los últimos años se está implantado el cultivo ecológico, dado que existe un sector importante de la población que demanda cada día productos más naturales, más sanos. En algunos frutales como olivo, almendro, viñedo, etc., ya existe una amplia experiencia de cultivo en ecológico, pero son pocas las explotaciones de granado que se están cultivando en agricultura ecológica. El granado es un cultivo que por la forma de cultivarlo a lo largo de los años se adapta muy bien al cultivo ecológico. Existen algunas explotaciones que ya lo han implantado con resultados muy buenos en diferentes provincias, así en Gibraleón (Huelva) la granada cultivada en ecológico se llegó a cotizar a 2,35 €/kg la variedad "Mollar" y a 3,15€/kg la variedad Wonderful. Sería importante que los productores de granada se plantearan como alternativa de técnica de cultivo la agricultura ecológica en sus plantaciones de granado.

1.3.- Calidad de la granada ecológica

El término calidad implica el grado de excelencia de un producto o de su conveniencia para un uso particular. La calidad es un punto de vista humano que abarca muchas propiedades o características. La calidad del producto abarca las características sensoriales (aspecto, textura, gusto y aroma), los valores nutritivos, los componentes químicos, las propiedades mecánicas, las características funcionales y los defectos (Abbott, 1999).

El último objetivo de la producción, el manejo y la distribución de fruta y verdura fresca es satisfacer al consumidor. Se entiende generalmente que la satisfacción del consumidor está relacionada con la calidad del producto. Mientras que el término calidad se ha definido de muchas maneras y contexto, hay poco acuerdo de qué es esto, cómo puede ser medido, y cómo se relaciona con la

aceptabilidad de consumidor. La calidad se puede ver como la ausencia de defectos o grado de excelencia. La calidad de la fruta abarca tanto las cualidades sensoriales que son percibidas fácilmente por los sentidos humanos y las cualidades ocultas tales como la seguridad y la nutrición (Shewfelt, 1999). Shewfelt (1999) sugiere que la combinación de características del producto por sí mismo esté definida como calidad y que la opinión y la respuesta del consumidor a esas características estén definidas como aceptabilidad. La definición del diccionario de la calidad abarca ambos conceptos (Webster 's; Neufeldt, 1988).

Las frutas y verduras son notoriamente variables, y la calidad de las piezas de individuales de fruta puede diferir en gran medida del promedio. Es esencial determinar estadísticamente el número de pedazos y el número de mediciones requeridas por pieza para alcanzar un muestreo significativo y representativo (Abbott, 1999). La calidad del producto según lo determinado por el último consumidor está afectada por los factores pre y post-recolección. La interacción entre solo las variables de pre y o post-recolección y como afecta a la calidad en general de los productos de la fruta serán descritos usando efectos pre-recolección y efectos de almacenaje (post-recolección).

1.3.1 – Factores pre-recolección que afectan la calidad

El aspecto y la calidad de frutas y verduras frescas es un primer criterio para tomar decisiones en nuestras compras. La apariencia del producto está caracterizada por el tamaño, la forma, el color, y la condición y ausencia de defectos. Una amplia gama de factores pre-recolección puede modular la calidad del producto cosechado. Éstos incluyen los factores biológicos (patológicos, entomológicos, animales), factores fisiológicos (desórdenes fisiológicos, desequilibrio alimenticio, madurez), factores ambientales/culturales (p.ejemplo: clima, tiempo, suelos, relaciones del agua, intensidad de luz), daños mecánicos, materia extraña (crecimiento medio, residuos químicos) y variaciones y aberraciones genéticas (Kays, 1999).

1.3.1.1 – Plagas, factor pre-recolección que afecta a la calidad del fruto

-Barreneta o barrenillo (*Anisandrus dispar*): Son pequeños insectos que excavan galerías en la corteza del granado.

-Pulgones (*Aphis laburoi*): Ataca las brotaciones, a las flores y a los frutos; provoca la caída de las flores y frutos debilitando al árbol que se hace propenso al ataque de otras plagas.

-Caparreta negra (*Ceroplastes sinensis*) y cotonet (*Planococcus citri*): Sus ataques no son económicamente muy importantes. Aparecen en los pomos de granadas y en la corona de la fruta.

-Cochinilla de la tizne (*Saissetia oleae*): Su ataque se aprecia por el color del hollín que deja en el granado.

1.3.1.2 – Enfermedades, factor pre-recolección que afecta a la calidad del fruto

-Podredumbre del fruto (*Botrytis cinerea*): La podredumbre del fruto es la enfermedad más importante del granado. Es una enfermedad criptogámica que provoca podredumbre de la pulpa, afecta también a los tabiques y membranas, torneándose todo el interior de la granada de un color negro, y la piel queda intacta, dado que esta enfermedad penetra al interior por el pistilo. No hay ningún remedio para combatir la enfermedad, aunque se pueden hacer pulverizaciones con productos fungicidas a base de cobre para prevenirla.

-Cribado (*Clasterosporium carpophilum*): Los síntomas de la enfermedad se manifiestan con manchas necróticas en la superficie del fruto, rodeadas de un halo de color más o menos rosa. El desarrollo de esta enfermedad se ve favorecido por las lluvias primaverales y de verano.

1.3.1.3 – Fisiopatías, factor pre-recolección que afecta a la calidad del fruto

- Granadas bardeadas o soleadas: Este accidente se produce por una fuerte insolación del fruto. Aparecen en la corteza pequeñas grietas y una mancha de

color marrón a negro en la zona afectada. En el interior del fruto los granados toman un sabor agrio desagradable.

-Granadas abiertas: Se cree que el agrietado de los frutos se produce como consecuencia del desequilibrio hídrico entre la fase de crecimiento y maduración del fruto; este problema se acentúa en años secos. Con el riego por goteo, al evitar estos desequilibrios hídricos, las frutas son de mejor calidad y más uniformes.

1.3.2 – Factores post-recolección de que afectan a la calidad

La calidad de una fruta fresca o de una verdura cambia desde que llega de la cosecha hasta que llega al consumidor. La importancia relativa de la calidad se atribuye a cambios desde la dirección hasta la compra del consumidor. Qué calidad depende entonces de la perspectiva del espectador. Un entendimiento de las diferentes perspectivas de diferentes participantes en la distribución post-recolección es esencial en cualquier tentativa de mejorar la calidad de una fruta fresca o de una verdura para el consumidor (Shewfelt, 1999). La susceptibilidad del producto cosechado fresco a desórdenes fisiológicos y al aumento de enfermedades post-recolección aumenta durante un almacenamiento prolongado, como resultado de los cambios fisiológicos que permiten al patógeno desarrollarse en el fruto (Eckert y Ogawa, 1988).

Los principales factores que afectan a la calidad de la fruta en post-recolección, vienen marcados por el almacenamiento de los frutos. El almacenamiento se realiza a temperaturas de refrigeración, el cual es factor por si solo más importante que gobierna en la calidad post-recolección de frutas almacenadas. Puede reducir enfermedades, control de insectos parásitos o procesos de modificación en la maduración, pero puede también causar daños por frío.

La granada tiene un período extendido de cosecha, dependiendo de la variedad y zona puede variar entre las 2 semanas y 8 semanas. Aun así, la refrigeración y almacenamiento en cámara frigorífica es el único método para ampliar su vida útil de la fruta fresca, pudiendo llegar hasta 3 meses. Las granadas son susceptibles a daños por frío si se almacenan por más de dos meses a temperaturas por debajo de 5°C (Elyatem y Kadar, 1984). Una de las metas

principales de la investigación sobre los daños por frío en materiales hortícolas es encontrar métodos eficaces para reducir lesiones inducidas por el frío. El producto fresco sensible al frío no puede recibir la ventaja completa de la conservación en cámara frigorífica, sino el deterioro de no ser refrigerado con rapidez. Si la tolerancia al frío en estos tejidos sensibles puede ser aumentada, o si el desarrollo de los síntomas de daños por frío puede ser retrasado, entonces sería factible almacenar estas materias a temperaturas más bajas para reducir la tasa de deterioración. Los síntomas potenciales de los daños por frío varían entre cosechas. Algunos de ellos se pueden manifestar internamente, mientras que la mayoría de ellos son externamente visibles y presentan diferente sintomatología. Los síntomas más comunes al frío son, la decoloración y el pardeamiento interno, la formación de las lesiones superficiales, el empapamiento de agua, la maduración anormal, y el decaimiento creciente. Esta variedad diferente de síntomas por frío muestra que el problema de los daños por frío no es simple ya que los mecanismos implicados en estos síntomas pueden diferir entre materias (Lafuente et al., 2004). Los síntomas de daños por frío en la fruta de la granada incluyen: el pardeamiento de la cáscara, picaduras, descascarillado, sensibilidad más alta para el decaimiento y la decoloración y el pardeamiento interno de las semillas (Rahemi y Mirdehghan, 2003; Mirdehghan y Rahemi, 2004).

En las últimas décadas, se han publicado numerosos informes respecto a las técnicas que se pueden utilizar durante el periodo de post-recolección para disminuir las lesiones por frío durante su almacenamiento. Estas técnicas se pueden categorizar como condicionantes de temperatura, calentamiento intermitente, atmósfera controlada, uso de los reguladores de crecimiento (ácido abscísico, triazoles, etileno, poliaminas), otros tratamientos químicos, capa de cera y otra capa. Algunas de estas técnicas son más eficaces en ciertas materias que en otras, y las condiciones óptimas varían con las cosechas.

Durante los últimos años ha habido un aumento de interés en el uso de los tratamientos de calor post-recolección para controlar los daños por frío. Debido a la preocupación del consumidor con respecto a los problemas ecológicos causados por muchos de los productos agro-químicos usados en post-recolección y de su daño potencial a los seres humanos, hay un interés renovado

en ampliar el uso de tratamientos físicos alternativos para aliviar los daños por frío, particularmente tratamientos termales.

1.4.- Problemática Poscosecha de la granada ecológica

La granada es un fruto no climatérico que no madura fuera del árbol ni siquiera mediante tratamientos con etileno y se debería recolectar cuando está totalmente maduro para asegurar un sabor óptimo. Actualmente, la industria de la granada en España está claramente interesada en prolongar el período de almacenamiento de los frutos para alcanzar el mercado más allá del período actual de comercialización. Algunos estudios indican que la variedad 'Mollar de Elche', el cultivar de granada más extendido en España, debería almacenarse a temperaturas de 5°C y humedades relativas (HR) del 90% o mayores para evitar pérdidas de peso y el desarrollo de daños por frío (escaldado o decoloración marrón de la piel y/o picado superficial), que son los principales problemas que limitan la frigo conservación de la granada (Artés et al., 2000). Sin embargo, el almacenamiento en estas condiciones puede favorecer el desarrollo de enfermedades de poscosecha si se compara con una conservación a temperaturas más bajas (0-1°C). Según el tipo y el momento de la infección, existen dos tipos de enfermedades de poscosecha, las causadas por patógenos de herida, que infectan el fruto en el campo o en poscosecha exclusivamente a través de microheridas o heridas visibles en la piel del fruto, y las causadas por patógenos latentes, que infectan las flores, los frutos jóvenes o los frutos maduros en el campo pero que permanecen inactivos o latentes hasta que, debido a cambios físicos o fisiológicos en el fruto huésped o a cambios en las condiciones ambientales, se desarrollan en la fase de poscosecha. El patógeno de este tipo más importante es el hongo *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., que causa la enfermedad conocida como podredumbre gris. Además de *B. cinerea*, se han citado otros hongos causantes de podredumbres en poscosecha de granada en distintas zonas productoras, entre ellos *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Alternaria spp.*, *Nematospora spp.*, *Coniella spp.*, *Colletotrichum gloeosporioides* o *Pestalotiopsis versicolor*. La incidencia de enfermedades de poscosecha depende tanto de factores de precosecha (cultivar, clima, condiciones de crecimiento, etc.), como de la propia cosecha y de factores

posteriores a la recolección (manejo, condiciones de almacenamiento, etc.). Por tanto, esta incidencia potencial debería determinarse específicamente para cada zona de cultivo pues muchos de estos factores presentan un marcado carácter local.

1.5.- Herramientas Poscosecha para su uso en ecológico

La granada ecológica presenta serios problemas de calidad durante el almacenamiento post-recolección, tales como desecación por pérdida de peso, podredumbres y pardeamiento, que se ven agravados cuando se almacenan a temperaturas de refrigeración apareciendo los denominados síntomas de daños por frío. Existen estrategias post-recolección consideradas no contaminantes, como son la aplicación de choques térmicos suaves, y el uso de compuestos naturales tales como poliaminas, ácido salicílico, ácido acetil salicílico, ácido oxálico, salicilato de metilo y jasmonato de metilo, que tienen su influencia en la reducción de daños por frío y mantenimiento de la calidad organoléptica, nutritiva y funcional de la granada ecológica.

1.5.1 –Tratamiento térmico del fruto

El uso de los tratamientos con calor, es una herramienta que se ha estudiado con diferentes métodos, baño de agua caliente, aire caliente forzado y vapor.

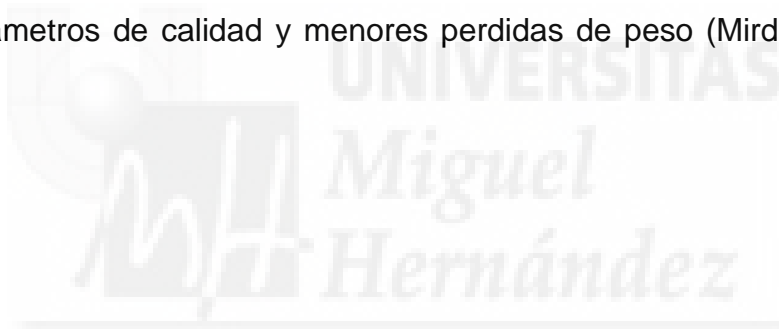
Estas técnicas se han mostrado efectivo para inducir la tolerancia de la fruta a temperaturas frías y a la reducción de los síntomas de daños por frío durante de almacenamiento (Lurie, 1988; Ferguson et al ., 2000; Fallik, 2004), de este modo se produce un incremento de la posibilidad de almacenamiento y comercialización de una amplia gama de producto almacenado. Hay diversas combinaciones de temperatura y duración del tratamiento por calor, con un rango que oscila entre 43-53°C y desde unos pocos minutos hasta 2h, dependiendo de la especie y el tamaño de la fruta. Un calentamiento intermitente a 20°C cada 6 días a 2 ó 5°C o una curación a 33°C durante 3 días anteriores a un almacenamiento a 2°C reduce el decaimiento y alivia los síntomas producidos por daños por frío (Artés et al., 1998; 2000).

1.5.2 – Tratamiento con compuestos naturales

Compuestos, tales como el jasmonato de metilo y el ácido acetil salicílico, son compuestos naturales de los órganos de las plantas. Jasmonato de metilo (éster metílico activo volátil y derivado del ácido jasmónico) es una sustancia endógena que regula muchos aspectos del desarrollo y crecimiento de las plantas, incluyendo la floración, la maduración de los frutos y la senescencia (Creelman & Mullet, 1995). Por otro lado, el ácido acetil salicílico es también un compuesto vegetal volátil sintetizado a partir de ácido salicílico que tiene un papel en el mecanismo de defensa de la planta, así como durante el crecimiento y desarrollo de la planta, que podría convertirse de nuevo en ácido salicílico (Hayat y Ahmad, 2007). Ambos compuestos, han sido descritos como moléculas de señal en las respuestas de estrés de las plantas, tanto los tipos bióticos y abióticos, incluyendo heridas, daños por plagas, daños mecánicos, la sequía y los daños por frío, entre otros (Creatman y Mullet, 2007). Durante la baja temperatura de los productos frutales, se produce disfunción de la membrana celular que se considera como el principal evento molecular que conduce en última instancia al desarrollo de los síntomas de daños por frío (Zhang & Tian, 2009). La disfunción afecta la fluidez de la membrana, que está fuertemente influenciada por su composición lipídica.

Recientes investigaciones han demostrado que el tratamiento con jasmonato de metilo redujo el desarrollo de los síntomas de daños por frío en una amplia gama de frutas, incluyendo el mango (González-Aguilar, Fortiz, Cruz, Báez y Wang, 2000), guayaba (González-Aguilar, Tiznado-Hernández, Zavaleta -Gatica, & Martínez-Téllez, 2004), tomate (Ding, Wang, Gross, & Smith, 2001) y níspero (Cao, Zheng, Wang, Rui y Tang, 2010). Además, el tratamiento con jasmonato de metilo exógeno aumentó la resistencia del tomate (Fung et al., 2006) y la fruta del melocotón (Han, Tian, Meng, & Ding, 2006) al estrés a baja temperatura a lo largo de la mejora de la actividad de las enzimas antioxidantes, Membranas de la disfunción causada por lesión lipídica peroxidativa. Estudios más recientes han demostrado que la aplicación de tratamientos con jamosnato de metilo y acido acetil salicílico alivian los síntomas y gravedad de los daños por frío (Sayyari, Babalar, Kalantari, Matrinez-Romero, Fabian, Serrano, Valero, 2011).

El desarrollo de daños por frío implica cambios en la fase de transición de la membrana induciendo a efectos de deterioro en los tejidos con un incremento de la permeabilidad de la membrana por la alteración de los lípidos y de las proteínas. Además, se han descrito aumentos en las concentraciones de las poliaminas (Bouchereau et al., 1999), Aunque, no está claro aún si esta mejora en las poliaminas es el resultado del stress por el frío o por un mecanismo de protección en contra de los daños por frío. Así, se ha descrito que la Putrescina actúa como protector del estrés por frío en la planta del tomate (Kim et al., 2002), mientras la Espermidina previno los daños por frío en pepino (Shen et al., 2000) y calabacín (Martínez-Téllez et al., 2002). Además, el papel protector de las poliaminas ha sido también descrito en otros tipos de tensión tales como daños mecánicos (Valero et al., 2002) o salinidad (Chattopadahayay et al., 2002). Estudios sobre aplicación de poliamidas por presión e inmersión en granada han demostrado reducciones significativas en el desarrollo de daños por frío, mejoras en los parámetros de calidad y menores pérdidas de peso (Mirdehghan et al., 2006).

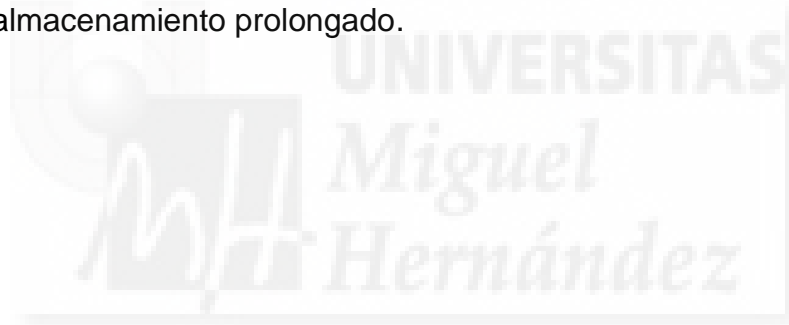


2.- OBJETIVOS

De acuerdo con los antecedentes comentados en la introducción, la refrigeración es el único método para prolongar su vida útil hasta los 3 meses, aunque si se prolonga el almacenamiento durante 2 meses a temperaturas por debajo de 5°C, la fruta de la granada comienza a experimentar daños por frío. Los síntomas más comunes al frío son, la decoloración y el pardeamiento interno, la formación de las lesiones superficiales, el empapamiento de agua y la maduración anormal.

El principal objetivo de esta investigación ha sido el de encontrar métodos eficaces para reducir las pérdidas de calidad en granada ecológica durante su conservación poscosecha a temperaturas que no producen alteraciones por frío.

El tratamiento consiste en la aplicación de jasmonato de metilo mediante baño de agua. El estudio se centra en el posible papel del jasmonato de metilo para reducir los daños por frío y para aumentar la vida útil de la granada ecológica durante el almacenamiento prolongado.



3.- MATERIAL Y METODOS

3.1.- Material vegetal

Las frutas utilizadas en este experimento han sido granadas (*Punica granatum* L. Cv. Mollar Elche). Las granadas fueron seleccionadas de entre las recolectadas en octubre 2016 de un huerto situado en Orihuela (Alicante).



Figura 1. Granadas ecológicas recolectadas en campo de Orihuela utilizadas en el experimento.

Los frutos se recogieron cuando estuvieron completamente maduros de acuerdo con la práctica comercial e inmediatamente llevados al laboratorio. Las granadas con defectos (soleadas, abiertas, magulladuras, roturas y cortes en la corteza) fueron descartadas.

3.2.- Diseño Experimental vegetal

La fruta resultante de la recolección y posterior selección, fue dividida de forma aleatoria en tres lotes de 45 frutos para llevar a cabo un tratamiento por inmersión a dos concentraciones respecto a un control. Además, se muestrearon 15 granadas el mismo día que fueron recolectadas y llevadas al laboratorio como Día 0. La realización del experimento se fundamenta en realizar muestreos mensuales, concretamente 3, de 15 granadas por tratamiento divididas en 3 réplicas de 5 unidades sobre los que se probó un tratamiento poscosecha con Jasmonato de Metilo (JaMe).

Dicho tratamiento consistía en lo siguiente:

- El tratamiento se realizaba mediante inmersión en dos baños diferentes de agua con el compuesto Jasmonato de Metilo (JaMe) a dos concentraciones: 1 mM para el primer lote y 10 mM para el segundo lote. El tercer lote control se bañó en agua destilada sin el compuesto. El método de inmersión se realizó en recipientes de agua de una capacidad de unos 10 Litros y se bañaban 15 frutos. El tiempo de duración era de dos minutos aproximados para cada replica. El tratamiento se renovaba cada 15 frutos bañados con el fin de que no perdiese eficacia en la siguiente replica a tratar. Seguidamente, las granadas se secaban en papel de kraft a temperatura ambiente.



Figura 2. Granadas ecológicas divididas en lotes: control-agua sin tratar y tratadas con Jasmonato de Metilo (JaMe) a dos concentraciones (1 y 10 mM).

Una vez secas, se dispusieron en cámara frigorífica con temperatura controlada a 10 °C, en oscuridad permanente y una humedad relativa del 90 %. Después de 30, 60 y 90 días, 15 frutos por cada lote fueron muestreados.

La preparación del tratamiento de inmersión consistía en disolver previamente el compuesto comercial Jasmonato de Metilo, en estado líquido, con ®Tween-20

(tensoactivo) y, posteriormente, llevarlo al volumen final del recipiente de inmersión con agua destilada.



Figura 3. Solución de inmersión en recipiente de capacidad de unos 10 Litros con el tratamiento JaMe.

Los parámetros a estudiar en el presente diseño experimental fueron físico-químicos y funcionales, entre ellos: Pérdida de peso, tasa de respiración, producción de etileno, firmeza, color externo, sólidos solubles totales (SST), acidez total (AT), imágenes internas y fenoles totales. Todo el plan experimental anteriormente descrito, se puede observar de forma resumida en el esquema (Figura 7).

3.3.- Determinaciones analíticas

3.3.1.- Parámetros físico-químicos

3.3.1.1.- Determinación de las pérdidas de peso

La pérdida de peso es la principal causa de pérdida de calidad del producto en la conservación poscosecha del producto fresco (Barba-Teodoro, 2015). Para la determinación de dicha, ha calculado en % de pérdida de peso con respecto al peso inicial de los frutos antes de la conservación o día 0, que se considera como el 100 %.

El pesado se efectuó con una balanza de la categorización Gram Precision, Serie BH-600, con una precisión de $\pm 0,01$ gramos y una capacidad de 600 gramos. Las pérdidas de peso acumulativas se expresaron como la media \pm ES de los 15 frutos de cada lote en cada muestreo.



Figura 4. Balanza utilizada para el pesado de las granadas ecológicas muestreadas.

3.3.1.2.- Determinación de la producción de etileno y la tasa de respiración

Las granadas de cada lote de muestra (control, JaMe 1 mM y JaMe 10 mM) fueron divididas en 5 submuestras de 3 réplicas (15 frutos totales), cada una de las cuales se introdujeron en un bote teniendo finalmente 3 botes representativos de cada muestra estudiada.

Los envases de plástico utilizados eran de una capacidad de 11 Litros llenados cada uno con 5 frutos (Figura 5). Las extracciones se realizaron a los 60 minutos de haber estado cerrados los botes de forma hermética, pinchando a través del septum con una jeringuilla de gases de 1 mL. Se extrajeron 2 muestras de 1 mL.

Cada mL de la atmósfera del tarro era inyectado en un cromatógrafo de gases HP-PACKARD GC-2010 (Figura N° 7), provisto de un detector de ionización de llama (FID) y una columna de acero inoxidable, de 3 m de longitud total y de 2 mm de diámetro interno, con relleno de alúmina activada de 60/80 mesh.

Las condiciones de trabajo empleadas fueron:

- Flujo del gas portador (He): 50 mL·min⁻¹.
- Flujo de hidrógeno: 40 mL·min⁻¹.
- Flujo de aire: 400 mL·min⁻¹.
- Temperatura del inyector: 100 °C.
- Temperatura del detector: 150 °C.
- Temperatura de la columna: 100 °C.

El cromatógrafo de gases estaba conectado a un registrador integrador HEWLETT-PACKARD modelo 5890 (Figura 6).



Figura 5. Sistema estático de botes de cierre hermético para la determinación de la producción de etileno y de la tasa de respiración de las granadas muestreadas.

El etileno fue identificado por su tiempo de retención característico en la columna, que en las condiciones empleadas fue, aproximadamente, de 1 minuto y 27 segundos. Como estándar externo se utilizó un patrón de calibración con una concentración de 10 ppm de etileno en nitrógeno. Con él, se construyeron rectas de calibrado que permitieron cuantificar de forma directa el etileno desprendido por los frutos. Los resultados obtenidos para el etileno son la media \pm ES de 6 medidas para cada lote y se expresan como nanolitros de etileno desprendido por gramo de fruto y hora ($\text{nL de C}_2\text{H}_4 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Para determinar la emisión de CO_2 por los frutos se utilizó el método de Kader (1992), descrito anteriormente. Las muestras del contenido gaseoso de los botes donde se habían encerrado los frutos, se inyectaron simultáneamente a las del etileno, en un cromatógrafo de gases para CO_2 SHIMADZU GC-14B, equipado con un integrador SHIMADZU C-R6A CHROMATOPAC (Figura 6).

Los resultados se expresan como miligramos de dióxido de carbono desprendido por kilogramo de fruto y hora ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) y son la media \pm ES de 6 medidas por lote. Las condiciones de trabajo empleadas fueron:

- Flujo del gas portador (Helio): $16 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

- Temperatura del detector: 150 °C.
- Temperatura del inyector: 115 °C.
- Temperatura del horno: 35 °C.
- Tipo de calibración: Patrón externo (Aire atmosférico).
- Tiempo de retención del CO₂: 0,6 min.
- Detector conductividad térmica (TCD).
- Columna de separación y determinación del CO₂: CHROMOSORB 102 80/100 de 2 m x 1,8”.



Figura 6. Cromatógrafos gaseosos descritos para la determinación de la producción de etileno (imagen izquierda) y la tasa de respiración (imagen derecha) de las granadas.

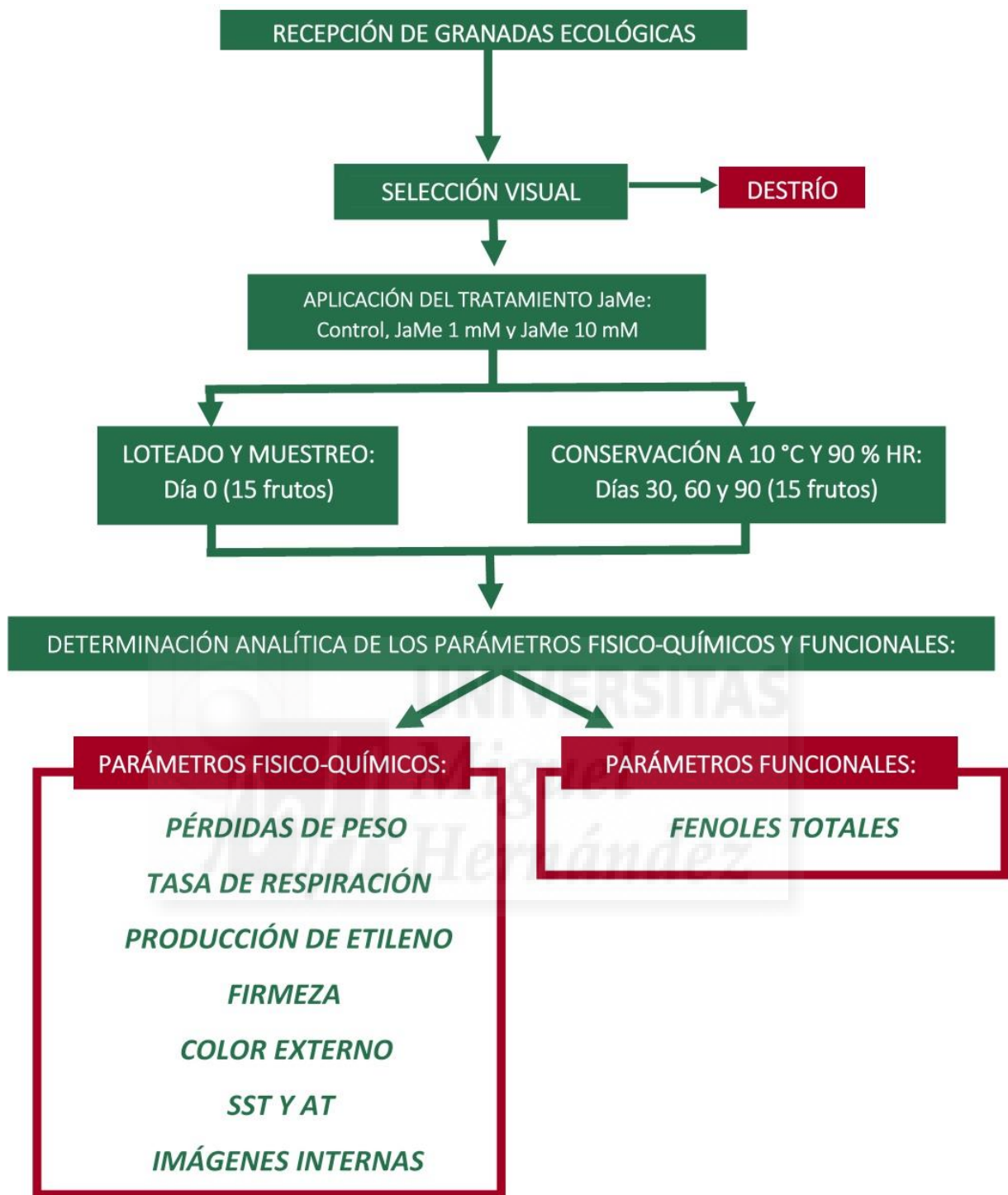


Figura 7. Esquema del diseño experimental y de las determinaciones analíticas llevadas a cabo.

3.3.1.3.- Determinación del Firmeza

Para determinar las propiedades mecánicas de los frutos se utilizó un texturómetro TA-XT2i (Texture Analyzer, Stable Microsystems, Godalming, UK) que es válido para hacer ensayos de tracción, compresión y flexión, con una

fuerza máxima de ensayo de 25 KN y una precisión en la medida de 0,5-1 %. Este aparato está conectado a un ordenador personal para el procesado de datos (Imagen 8).

Para determinar la firmeza de los frutos se utilizó una sonda P100, consistente en un plato de compresión de 100 mm de diámetro de base plana, montada sobre el Texturómetro TA-XT2i (Figura 8), determinándose la fuerza ejercida sobre el fruto hasta producirle una deformación del 5 %. La velocidad de descenso del disco fue fijada en $18 \text{ mm}\cdot\text{seg}^{-1}$, expresando los resultados como la relación existente entre la fuerza necesaria para ejercer la deformación mencionada y la distancia de dicha deformación ($\text{N}\cdot\text{mm}^{-1}$).



Figura 8. Texturómetro TA-XT2i (imagen izquierda) con los accesorios empleados en el ensayo de compresión (imagen derecha).

Las medidas de firmeza se realizaron sobre cada una de las 15 granadas muestreadas, siendo los resultados, para cada muestra, expresados como la media \pm ES de 15 medidas por muestreo.

3.3.1.4.- Determinación del color externo

Los cambios de color normalmente suponen la pérdida de clorofilas, y la síntesis de nuevos pigmentos como antocianinas o carotenoides que darán los colores característicos de cada fruto. En el caso de la granada, las antocianinas son los pigmentos responsables de otorgarle su coloración característica. Estas tienen

colores que oscilan del rojo al morado, azul o casi negro y se acumulan fundamentalmente en las vacuolas.

Para la determinación del color de los frutos se utilizó un colorímetro triestímulo MINOLTA modelo CR-300 (Figura 9). Este aparato está provisto de una fuente luminosa constante que proyecta una luz sobre la muestra formando un ángulo de 45° y la refleja verticalmente a través de los correspondientes juegos de filtro y fotocélula para dar valores a los parámetros L*, a* y b*.

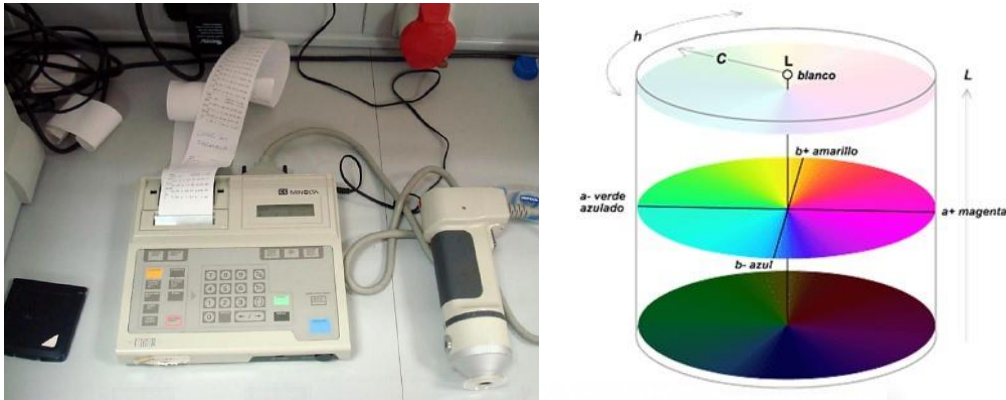


Figura 9. Colorímetro triestímulo MINOLTA CR-300 (imagen izquierda) y sistema CIE Lab (imagen derecha).

Para cada fruto se efectuaron 2 medidas repartidas uniformemente por toda su superficie, siendo el valor que aparece en las figuras la media de las dos medidas de los 15 frutos de cada lote. Para la determinación del color se utilizó el sistema CIE Lab (L*, a*, b*). Las coordenadas del sistema CIE Lab (Figura 9) están correlacionadas con tres índices básicos que se pueden distinguir en toda apreciación del color: luminosidad y cromaticidad (tono y croma).

El parámetro L* (eje Y) indica la luminosidad del fruto, varía de 0 (negro) a 100 (blanco). Los parámetros a* y b*, indican conjuntamente la cromaticidad, a* representado en el eje X, va desde colores verdes (-a*) hasta rojos (+a*) y b* representado en el eje Z (perpendicular) evoluciona desde el azul (-b*) hasta el amarillo (+b*). Los índices de croma y tono se calculan de la siguiente manera:

$$\text{Croma} = \sqrt{a^2 + b^2}$$

$$\text{Hue} = \arctg (a^* / b^*)$$

3.3.1.5.- Determinación de los sólidos solubles totales y acidez total

La determinación de sólidos solubles totales (%) o ° Brix se realizó con el zumo de las muestras de granada obtenido tras el corte, pelado y triturado de los arilos de las granadas muestreadas. La medición se realizó directamente utilizando un refractómetro digital (mod. HANNA (HI 96801) (Figura 10) previamente calibrado antes de cada medida con agua destilada. Todas las muestras se analizaron por duplicado y los resultados se expresaron como la media \pm ES de los 6 datos obtenidos de las 3 réplicas de cada lote de 15 frutos.

Por otro lado, la determinación de la acidez total se realizó con un titrador (mod. CRISON PH-MATIC 23) (Figura 10). Para ello, se tomó 1 mL de cada zumo (previamente triturando los arilos) y se añadieron 25 mL de agua destilada. Todas las muestras se analizaron por duplicado y los resultados de acidez fueron expresados como % de ácido málico o g de ácido málico/100 g de zumo, ya que este es el ácido orgánico mayoritario en la granada.



Figura 10. Refractómetro digital (imagen izquierda) y titrador o valorador de acidez (imagen derecha).

3.3.1.6.- Realización de fotografías internas mediante escáner

De cada réplica de cada lote, se cogieron al azar 2 mitades de granadas (6 mitades) que se sometieron a un escáner de imagen digital interno para poder apreciar las diferencias en coloración y defectos internos de los lotes estudiados. Para ello, se pudieron comparar 6 frutos en cada muestreo y así, estudiar cuales fueron las diferencias, existentes o no, entre el lote Control, JaMe 1 mM y JaMe 10 mM. Para ello, se utilizó un escáner digital EPSON Perfection V600 Photo acoplado a un PC portátil.

3.3.2.- Parámetros funcionales

3.3.2.1.- Determinación de fenoles totales

Los polifenoles son los antioxidantes más abundantes en la dieta (Scalbert y Williamsom, 2000) e incluyen a un amplio rango de componentes con actividad antioxidante, tales como los ácidos hidroxicinámicos, hidroxibenzóicos, flavonoles, flavanoles, antocianinas, etc. Para analizar el contenido en fenoles totales, se ha utilizado la metodología de Folin-Ciocalteu. Dicha metodología analítica se dividía en dos fases:

- **1º FASE: EXTRACCIÓN DE FENOLES TOTALES.** Se cortaban las granadas en mitades y se extraían los arilos internos como material vegetal a extraer. Cada lote contenía 3 réplicas de 5 frutos/réplica, por lo tanto, se realizaban 3 extracciones por lote. Se pesaban 10 gramos de arilos en tubos de centrifuga introducidos en una gradilla con hielo, y se les adicionaba 10 mL de Metanol + Fluoruro de sodio (MeOH + FNa) para parar la fotólisis, es decir, la ruptura de los enlaces químicos por causa de energía radiante. Dicho solvente fue empleado como agente extractante de la solución. Posteriormente, se homogeneizó en el desintegrador de tejido vegetal Polytron® modelo PT3100 durante 60 segundos a 24000 r.p.m. (Figura 11) y se centrifugó durante 10 minutos a 20000 r.p.m. a una temperatura de 4 °C en una centrifuga modelo C30P CENTRIFUGE, B. Braun. Biotech.

Antes de centrifugar, se calibraban los tubos con arena. La duración de dicha etapa era influyente en las oxidaciones y pardeamientos de las muestras.

- **2º FASE: DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES.** Una vez los tubos fueron sacados de la centrifuga, se tomó con una pipeta 1 mL de la muestra para la determinación de fenoles totales. El método empleado fue el descrito por Wood y cols. (2002), con ligeras modificaciones. Este método, se basa en la medida de la absorbancia para la posterior comparación con una recta de calibrado construida con las medidas de absorbancia correspondientes a distintas concentraciones de un patrón conocido de contenido en fenoles totales. En este caso, el patrón

empleado fue el ácido gálico. La ecuación de la recta de calibrado que se empleó es la siguiente:

$$Y = 0,035x + 0,0078$$

Siendo;

Y = Unidades de absorbancia (ABS).

x = Concentración de Ácido gálico ($\mu\text{g}/\text{cubeta}$).

- $r^2 =$ Valor de 0,995.



Figura 11. Desintegrador de tejido vegetal Polytron® modelo PT3100.

Se prepararon 2 tubos de ensayo por cada extracción. En cada uno de los tubos, se añadieron 2,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 1/10 (100 mL de folin-fenol + 900 mL H₂O ultrapura). Al tubo rotulado como “BLANCO”, se le adicionó 500 μL de Tampón Fosfato 50 mM y pH 7,8. Mientras que al resto de tubos rotulados como “MUESTRAS”, se les añadió 300 μL de Tampón Fosfato 50 mM y pH 7,8, y 200 μL de la muestra extraída. Por último, se agitaron todos los tubos.

Al cabo de 2 minutos de reposo, la reacción se paralizó con la adición de 2 mL de carbonato sódico (Na₂CO₃) y se volvieron a agitar los tubos de ensayo previamente a ser introducidos en un baño de agua a 50 °C durante 5 minutos. Finalmente, y una vez frías, se vertieron cada una de las muestras en cubetas reciclables y se introdujeron en el espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio- Tek

Instruments donde la absorbancia producida por la coloración azul era medida a una longitud de onda de 760 nm.

Los resultados obtenidos se expresan en mg equivalentes de Ácido Gálico por 100 g de peso fresco y son la media \pm ES de las determinaciones realizadas por duplicado en cada una de las 3 extracciones realizadas en cada muestra.

3.3.3.- Datos

En todos los experimentos realizados se ha utilizado un diseño completamente aleatorio. El efecto de los tratamientos realizados sobre las diferentes variables determinadas se ha estudiado mediante Análisis de la Varianza. Todos los análisis se han realizado con el Software SPSS v. 12.0.

4.- RESULTADOS Y DISCUSION

4.1.- Pérdidas de peso

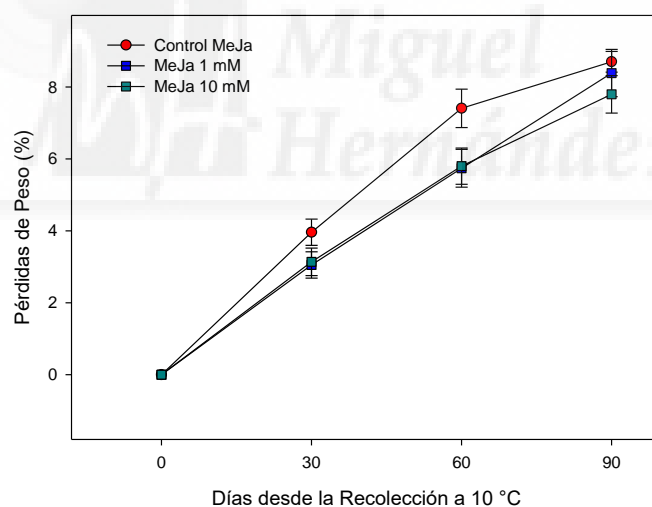


Figura 12. Pérdida de peso de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C. Los datos son la media \pm EE.

Como cabía esperar, durante el almacenamiento, las pérdidas de peso se incrementaron en cada muestreo. Al final del experimento, la fruta control perdió $8.69 \pm 0.28\%$. La pérdida de peso se vio afectada por los tratamientos con jasmonato de metilo, ya que las granadas tratadas mostraron menores pérdidas de peso durante el almacenamiento (Figura 12). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos con jasmonato de metilo después de 30 y 60

días por las diferentes concentraciones, mientras que a los 90 días el tratamiento con jasmonato de metilo 1mM presenta ligeramente mayores pérdidas de peso frente el tratamiento con jasmonato de metilo 10mM. El tratamiento jasmonato de metilo 10mM perdió $7.79 \pm 0.52\%$ al final del experimento.

Sin embargo, encontramos la diferencia más significativa a los 60 días de almacenamiento, donde la fruta control perdió $7.41 \pm 0.53\%$, mientras que ambos tratamientos con jasmonato de metilo perdieron $\approx 5.5\%$.

Hay muchos factores que afectan a la apariencia externa de las granadas, tales como la pérdida de agua, decaimiento y la aparición de desórdenes fisiológicos, como los daños por frío. La pérdida de agua es acelerada en condiciones de almacenamiento por encima de 5°C , y a esta temperatura el decaimiento aparece comúnmente (Mirdehghan et al, 2006). Experimentos previos con compuesto naturales han registrado pérdidas de peso $\approx 15\%$ en condiciones de almacenamiento a 2°C , producidas en gran medida por las alteraciones celulares que provocan los daños por frío. Cabe entender que la conservación a 10°C reduce significativamente la pérdida de peso en las granadas, así a esta temperatura el jasmonato de metilo disminuye las pérdidas de peso en granadas ecológicas.

4.2.- Tasa de Respiración y producción de etileno

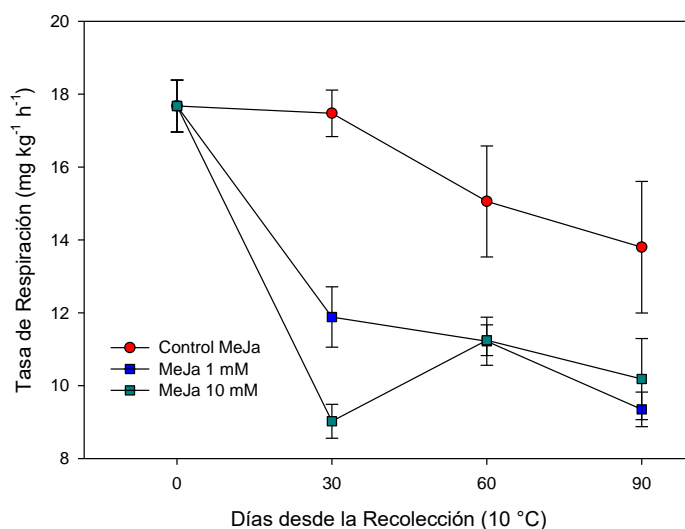


Figura 13. Tasa de respiración de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C . Los datos son la media \pm EE.

La fruta control no tratada, ha mostrado una reducción ligera de la tasa de respiración al final del experimento, siendo inapreciable después de 30 días, si bien del día de recolección presentó una tasa de respiración $17.67 \pm 0.71 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y al final de experimento $13.80 \pm 1.8 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 13). Las granadas tratadas con jasmonato de metilo han disminuido la tasa de respiración considerablemente después de 30 días, si bien estos niveles de respiración se han mantenido $\approx 10 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ después de 60 y 90 días. Encontramos una mayor reducción de la tasa de respiración después de 30 días en la fruta tratada con jasmonato de metilo 10mM frente a la fruta tratada con jasmonato de metilo 1mM, mientras que ambos tratamientos presentan similar resultado después de 60 y 90 días de almacenamiento.

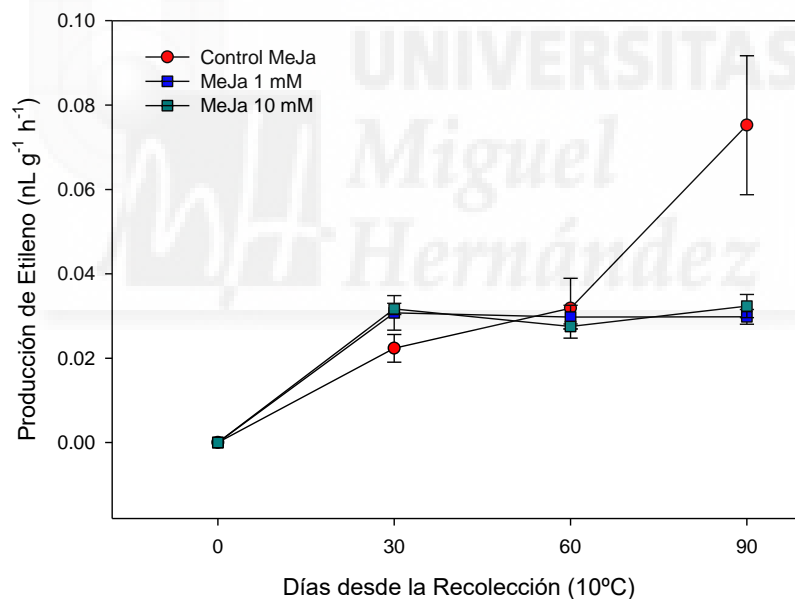


Figura 14. Producción de etileno de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C. Los datos son la media \pm EE.

La producción de etileno ha sido mínima en la fruta control después de 30 y 60 días, mientras que se encontró un aumento notable después de 90 días (Figura 14). Las granadas tratadas con jasmonato de metilo presentó una producción de etileno muy baja durante todo el almacenamiento. No se registró diferencia entre los tratamientos con jasmonato de metilo. Al final de experimento, la fruta control registro una producción de etileno $0.075 \pm 0.016 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, mientras que ambos

tratamientos con jasmonato de metilo registraron valores inferiores $0.03 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

La tasa de respiración se vio afectada por el tratamiento con jasmonato de metilo, reduciéndose frente a la fruta control, esta reducción en la tasa de respiración podría llevar consigo una disminución en el metabolismo del fruto, que se podría relacionar con una mayor vida útil. Entretanto, la producción de etileno mostró únicamente un incremento en las granadas control a los 90 de la recolección, este incremento podría ser una respuesta al estrés de la fruta, ya que ha sido descrito que diferentes alteraciones poscosecha en frutas y hortalizas pueden mostrar una señal de etileno previo a las apariciones, entre estas alteraciones, una de las más comunes son las podredumbres, Que en la mayoría de los casos estas están causadas por *Botrytis cinerea*, que se desarrolla en la zona calicinal a partir de esporas procedentes del campo, aunque también puede afectar a otras zonas de la superficie de la piel que hayan sufrido daños mecánicos o por frío.

4.3.- Firmeza

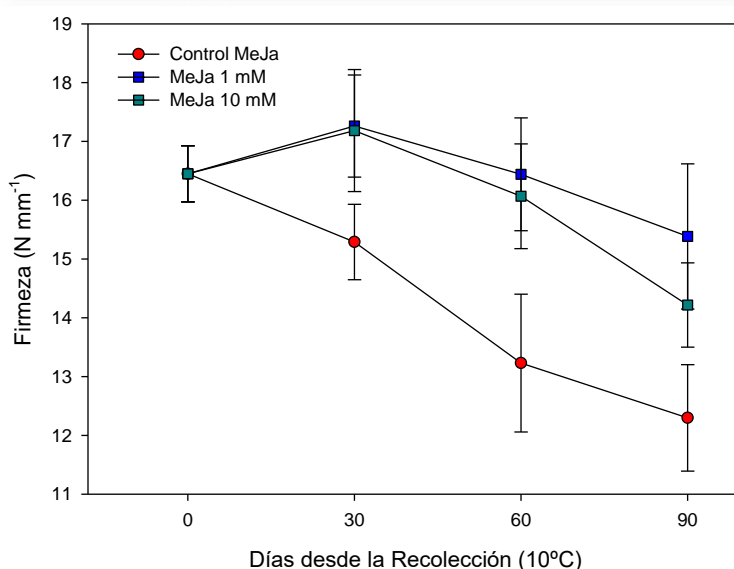


Figura 15. Firmeza de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C . Los datos son la media \pm EE.

La firmeza de la granada decreció significativamente durante el almacenamiento desde un 16.45 ± 0.48 hasta 12.29 ± 0.91 N mm⁻¹ de la fruta control, mientras el tratamiento con jasmonato de metilo llevó a una fruta más firme, siendo este efecto observado después de 30 días del tratamiento (Figura 15). La aplicación del tratamiento a la mayor concentración, presentó un valor de firmeza de 14.21 ± 0.72 N mm⁻¹ a los 90 días de la recolección, y en esta misma fecha la concentración de 1 mM presentaba una firmeza del fruto de 15.38 ± 0.8 N mm⁻¹.

Durante el almacenamiento de las granadas en periodos prolongados se producen una serie de cambios que afectan a la calidad organoléptica del fruto, entre los que se encuentra el ablandamiento. Como podemos ver en la figura 5, los frutos control exhiben un proceso acelerado de ablandamiento con una pérdida de firmeza gradual a medida que va transcurriendo el almacenamiento. El tratamiento mediante baños con jasmonato de metilo conllevó a un retraso en la pérdida de firmeza de los frutos para largo periodo de almacenamiento. Estudios previos realizados por (Sayyari et al., 2009; 2010; 2011) en granada convencional con jasmonato de metilo presentaron similares resultados en cuanto a la firmeza de la fruta en periodos de conservación. Si bien el mecanismo por el cual estos compuestos retrasan los procesos de ablandamiento no se conoce aún, y por tanto se necesitan investigaciones más profundas. En frutos se ha comprobado que durante el almacenamiento post-recolección viene acompañado por una pérdida en la integridad de la pared celular debido a la ruptura de las sustancias pécticas y un incremento de las pectinas solubles, que son las responsables de la pérdida de firmeza (Valero y Serrano, 2010).

4.4.- Color Externo

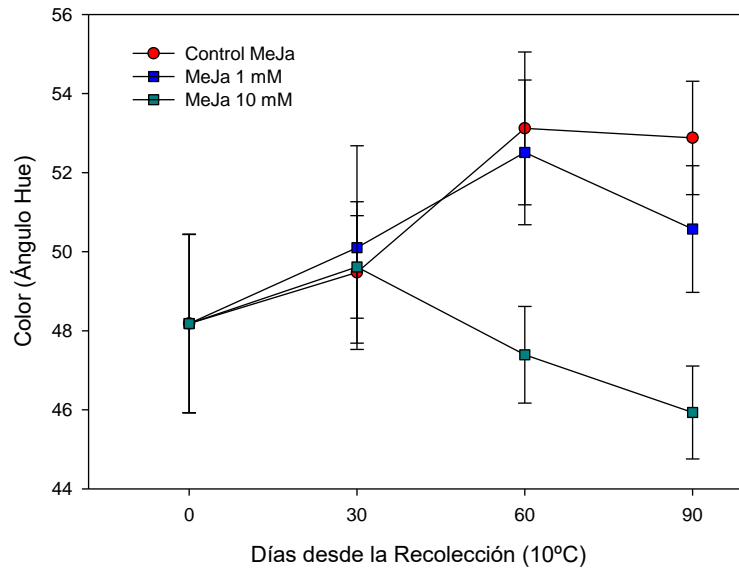


Figura 16. Color de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C. Los datos son la media \pm EE.

Los valores de color Hue apenas presentaron cambios durante la conservación en la granadas control y las granadas tratadas (Figura 16). Aunque, al momento de recolección las granadas presentaron un ángulo Hue de 48 grados, y al final del experimento la granada control registró 53°, mientras que la fruta tratada con jasmonato de metilo 10mM registro el valor más bajo con un Hue de 46°. La variación registrada después de cada muestreo no es significativa para ninguna de las réplicas, así como la diferencia mínima entre la fruta control y fruta tratada después de 90 días de almacenamiento.

4.5.- Sólidos solubles totales y acidez total

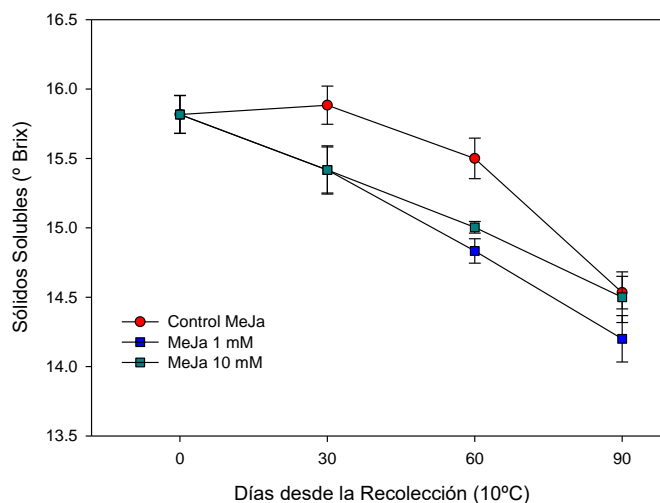


Figura 17. Sólidos solubles de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C. Los datos son la media \pm EE.

La fruta registró 15.81 ± 0.13 °Brix en el momento de recolección (Figura 17). Las granadas control no tratadas, registraron variaciones poco significativas después de 30 y 60 días de almacenamiento, mientras que después de 90 días registraron una pérdida en sólidos solubles, resultando 14.53 ± 0.11 °Brix. La fruta tratada con jasmonato de metilo registró una pérdida de sólidos solubles constante después de cada muestreo para ambos tratamientos. Al final del experimento, no se registró diferencias significativas entre la fruta tratada con jasmonato de metilo 1mM y 10mM.

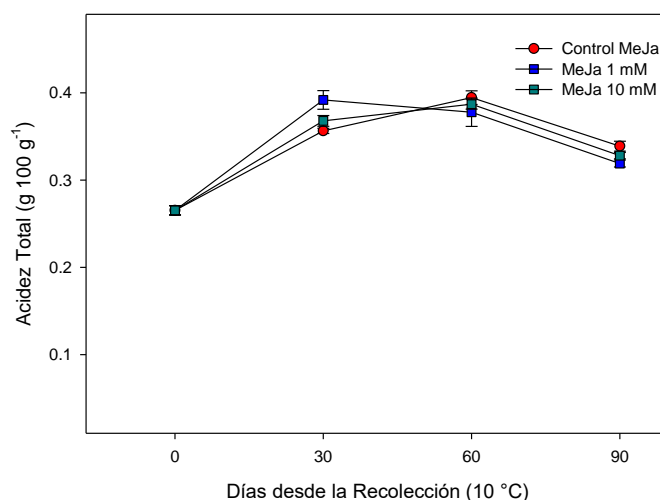


Figura 18. Acidez total de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C. Los datos son la media \pm EE.

La acidez en las granadas al inicio del experimento resulto 0.27 ± 0.05 g ácido málico/100g de zumo. Tanto las granadas control como las granadas tratadas con jasmonato de metilo presentaron similares resultados después de cada muestreo. Un ligero aumento en el % de ácido málico se registró después de 30 y 60 días de almacenamiento, mientras que al final del experimento resulto ≈ 0.32 g ácido málico/100g de zumo para todas las muestras (Figura 18).

Durante la conservación post-recolección se producen cambios que afectan al sabor, ya que disminuye significativamente el contenido de acidez (Mirdehghan et al., 2007a), debido fundamentalmente a disminución en los ácidos mayoritarios. Además, se producen pérdidas de firmeza y evolución del color, así como aumento en el índice de madurez, expresado como relación sólidos solubles/acidez, lo que indica la evolución del proceso de maduración después de la recolección (Valero, 2010). En nuestro experimento el contenido de acidez total calculado no ha presentado cambios significativos durante el periodo de conservación, si se ha registrado una pérdida de solidos solubles, representado así el proceso de maduración indicado, expuesto como $^{\circ}$ Brix (solidos solubles) / acidez.

4.6.- Imágenes internas

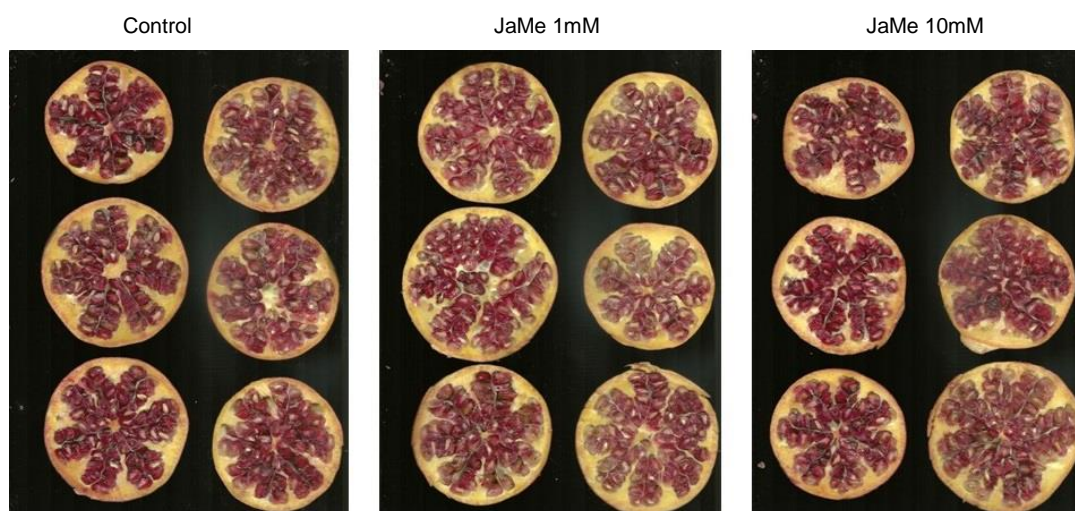


Figura 19. Color interno de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo (JaMe) después de 30 días de almacenamiento a 10°C.

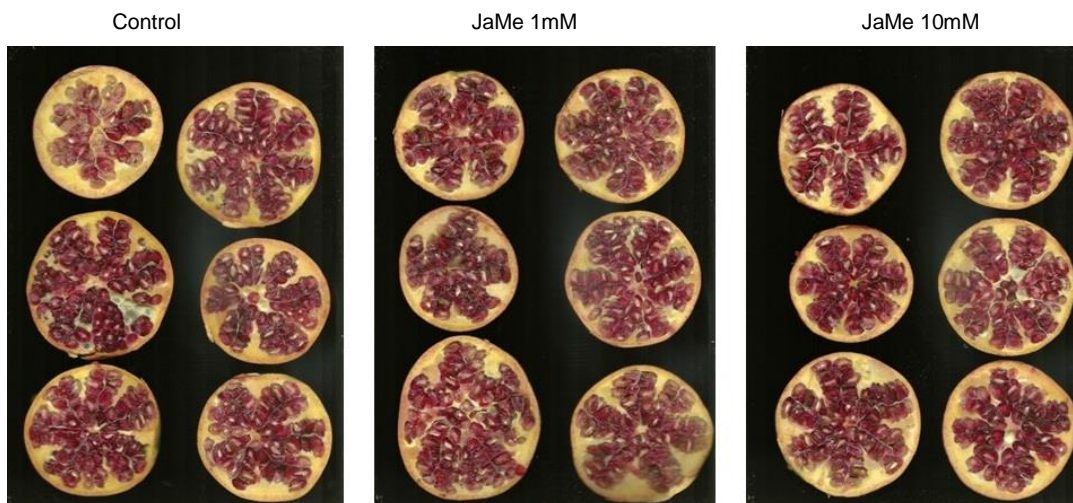


Figura 20. Color interno de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo (JaMe) después de 60 días de almacenamiento a 10°C.

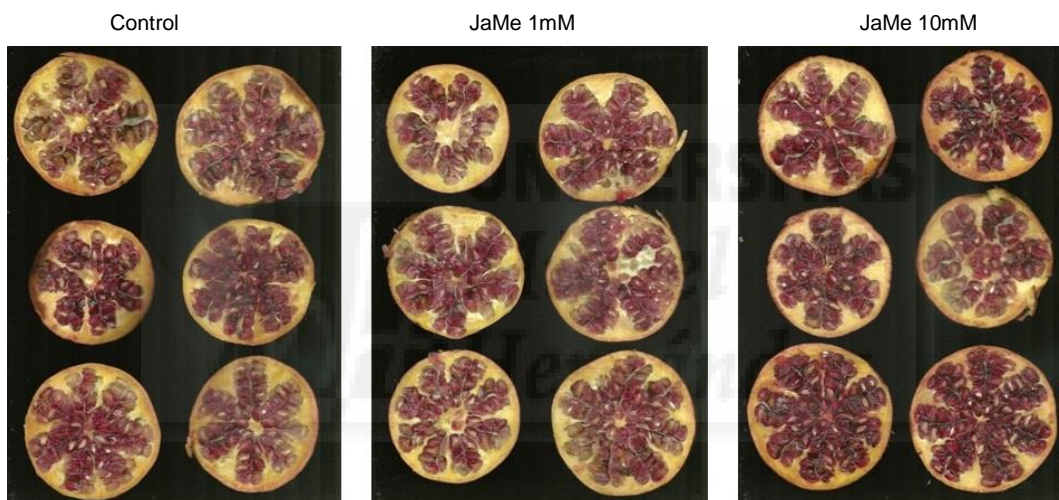


Figura 21. Color interno de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo (JaMe) después de 90 días de almacenamiento a 10°C.

La coloración interna de las granadas control no tratadas presentaron decaimiento en la intensidad de color rojo durante el almacenamiento, siendo leve después de 30 y 60 días (Figura 19 y 20), y pronunciado después de 90 días donde presentó un pardeamiento interno tanto de la membrana como los arilos (Figura 21). La fruta tratada con jasmonato de metilo registró similares resultados después de 30 y 60 días en cuanto a la coloración interna. Si bien después de 90 días en la fruta tratada con jasmonato de metilo 1mM se observó una pérdida de coloración en arilos, mientras que la fruta tratada con jasmonato de metilo 10mM presentó una coloración más intensa de arilos rojos con un tono más oscuro (Figura 21).

4.7.- Calidad funcional: Fenoles totales

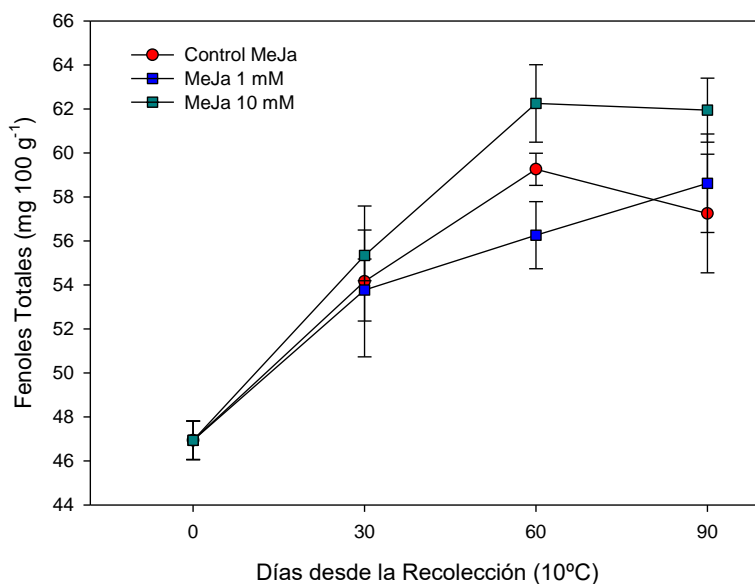


Figura 22. Fenoles totales de las granadas control y las tratadas con jasmonato de metilo después de varios periodos de almacenamiento a 10°C. Los datos son la media \pm EE.

El contenido total de compuestos fenólicos al momento de recolección fue 46.94 ± 0.87 mg $100g^{-1}$, y se acrecentó a lo largo del almacenamiento en la fruta no tratada. Y después de 90 días una concentración de 57.24 ± 2.69 mg $100g^{-1}$ (Figura 22). Del mismo modo, para ambos tratamientos con jasmonato de metilo las réplicas aumentaron el contenido en fenoles totales durante el almacenamiento. No hay diferencias significativas después de 30 días entre la fruta control y la fruta tratada. Después de 90 días, la fruta tratada con jasmonato de metilo 1mM obtuvo una concentración de fenoles totales 58.62 ± 2.24 mg $100g^{-1}$, mientras que la fruta tratada con jasmonato de metilo 10mM obtuvo 61.94 ± 1.45 mg $100g^{-1}$. Se observa una concentración de fenoles totales creciente en el tratamiento con jasmonato de metilo 1 mM después de 60 y 90 días. Sin embargo, la fruta tratada con jasmonato de metilo 10 mM alcanza su mayor concentración de fenoles totales después de 60 días, y manteniendo la concentración de compuestos fenólicos después de 90 días.

Durante el desarrollo en el fruto también se producen cambios en la concentración de fenoles totales, ya que disminuye bruscamente en la etapas iniciales y después el descenso es muy pequeño, siendo las concentraciones en

el fruto maduro también diferentes dependiendo de la variedad, oscilando en el rango de 90 a 210 mg/100 g (Kulkarni y Aradhya, 2005; Mirdehghan et al., 2006; Ozgen et al., 2008; Sayyari et al., 2010; 2011) y siendo los fenoles mayoritarios los ácidos gálico, clorogénico, caféico, ferúlico y los o- y p-cumárico, así como catequina y quercitina (Poyrazoglu et al., 2002). Además, es interesante destacar que en la piel el contenido en fenoles es muy superior que en los arilos, por lo que podría considerarse una fuente importante de antioxidantes (Li et al., 2006). Por otra parte, hay que prestar atención a los cambios que se producen en los compuestos bioactivos y en la capacidad antioxidante de los arilos, ya que como se ha comentado anteriormente son unos atributos cada vez más apreciados por los consumidores en su relación con la salud. El alto contenido en polifenoles que se obtienen de todos los componentes de la fruta de granada se relaciona con sus propiedades antitumorales. En este sentido, se ha comprobado que tras períodos largos de almacenaje a 2 °C de granadas “Mollar de Elche” recolectadas en estado de maduración avanzado (Sayyari et al., 2010; 2011) se produce una pérdida significativa de la concentración de fenoles totales. Sin embargo, en otros trabajos realizados con la misma variedad recolectada en estado de maduración temprano se han encontrado aumentos en las concentraciones de antocianinas y fenoles y en la actividad antioxidante (Mirdehghan et al., 2006; 2007c). De esta manera, podemos afirmar que la conservación de almacenamiento de largo periodo a 10°C y el tratamiento con jasmonato de metilo beneficia al aumento de concentración de fenoles totales, representado así una mejoría en relación a la salud en el consumo de granadas ecológicas.

5.- CONCLUSIONES

El tratamiento realizado en este experimento ha sido eficaz puesto que se ha conseguido reducir la pérdida de peso, tasa de respiración, producción de etileno, ablandamiento, pardeamiento de color externo de la fruta, y el incremento de concentración de fenoles totales.

Los valores de acidez total y sólidos solubles totales no han presentado variación significativa en la fruta tratada.

Las imágenes de coloración interna de la fruta han desvelado una reducción del pardeamiento interno en la fruta tratada con jasmonato de metilo.

De los dos tratamientos aplicados, la aplicación de jasmonato de metilo concentración 10mM ha sido la más eficaz, resultando ligeramente mejores resultados en todas las determinaciones, excepto en la firmeza de la fruta.

En los tratamientos realizados se han empleado compuestos naturales, siendo totalmente aceptables para su uso en granada ecológica. Además, no suponen ningún tipo de contaminación, siendo completamente inocuos pudiendo ser utilizados sin ningún tipo de impedimento para el procesado en la Industria Agroalimentaria, por lo que este podría ser un paso a seguir posteriormente, aunque sería necesario repetir los experimentos para una mayor fiabilidad.

6.- BIBLIOGRAFIA

Abbott, J. A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. Postharvest

Biol. Technol. 15: 207-225.

Abbott, J. A. and W. S. Conway. 1989. Postharvest calcium chloride infiltration affects textural attributes of apples. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114: 932-936.

Abu-Kpawoh, J. C., Y. F. Xi, Y. Z. Zhang and Y. F. Jin. 2002. Polyamine accumulation following hot-water dips influences chilling injury and decay in 'Friar' plum fruit. J. Food Sci. 67: 2649-2653.

Alonso, Gonzalez, Foraster 2009. Comparación económica entre cultivos ecológicos y convencionales.

- Artes, F., A. J. Tudela and M. I. Gil. 1998. Improving the keeping quality of pomegranate fruit by intermittent warming. *Lebensm Unters Forsch* 207: 316-321.
- Artes, F., A. J. Tudela and R. Villaescusa. 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biol. Technol.* 18: 245-251.
- Artés, F., Marín, J.G., Martínez, J.A. 1996. Controlled atmosphere storage of pomegranate. *Eur. Food. Res. Technol.* 203, 33-37.
- Artés, F., Villaescusa, R., Tudela, J.A. 2000. Modified atmosphere packaging of pomegranate. *J. Food Sci.* 65, 1112-1116.
- Ben-Arie, R., Segal, N., Guelfat-Reich, S. 1984. The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109, 898-902.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F., Martin-Tanguy, J. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent developments. *Plant Sci.* 140, 103-125.
- Chattopadachayay, M.K., Tiwari, B.S., Chattopadachayay, G., Bose, A., Sengupta, D.N., Ghosh, B. 2002. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiol. Plant.* 116, 192-199.
- Chechile, 2010. Utilidad del zumo de la granada en oncología, urología y andrología. *Jornadas nacionales sobre el granado* : 239-246.
- Defilippi, B.G., Whitaker, B.D., Hess-Pierce, B.M., Kader, A.A. 2006. Development and control of scald on wonderful pomegranates during long-term storage. *Postharvest Biol. Technol.* 41, 234-243.

- Eckert, J. W. and J. M. Ogawa. 1988. the chemical control of postharvest disease: deciduous fruit, berries, vegetables and root/tuber crops. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 433-469.
- Elyatem, S. M. and A. A. Kadar. 1984. Postharvest physiology and storage behavior of pomegranate fruits. *Scientia Hort.* 24: 287-298.
- Fallik, E., Z. Ilic, S. Tuvia-Alkalai, A., Copel and Y. Polevaya. 2002. A short hot water rinsing and brushing reduces chilling injury and enhance resistance against *Botrytis cinerea* in fresh harvested tomato. *Adv. Hortic. Sci.* 16: 3-6.
- Fallik, E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and bruising). *Postharvest Biol. Technol.* 32, 125-134
- Ferguson, I.B., Ben-Yehosua, S., Mitcham, E.J., McDonald R.E., Lurie, S. 2000. Postharvest heat treatments: introduction and workshop summary. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 1-6.
- Gonzalez-Aguilar, G. A., L. Gayosso, R. Cruz, J. Fortiz, R. Báez and C. Y. Wang. 2000. Polyamines induced by hot water treatments reduce chilling injury and decay in pepper fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 18: 19-26.
- Gonzalez-Aguilar, G. A., L. Zacarias, M. Mulas, M. T. Lafuente. 1997. Temperature and duration of water dips influence chilling injury, decay and polyamine content in 'Fortune' mandarins. *Postharvest. Biol. Technol.* 18: 61-69.
- González-Aguilar, G.A., Zacarías, L., Pérez-Amador, M.A., Carbonell, J., Lafuente, M.T. 2000b. Polyamine content and chilling susceptibility are affected by seasonal changes in temperature and by conditioning temperature in cold-stored 'Fortune' mandarin fruit. *Physiol. Plant.* 108, 140-146.

- Gur, A. 1986. *Punica granatum* In: A. H. Halevy (ed.). *CRC Handbook of flowering* Vol. IV, CRC Press . Florida, USA. pp. 147-150
- Kim, T.E., Kim, S.K., Han, T.J., Lee, J.S., Chang, S.C. 2002. ABA and polyamines act independently in primary leaves of cold-stressed tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Physiol. Plant.* 115, 370-376.
- Lafuente, M. T., L. Zacarias, J. M. Sala, M. T. Sanchez-Ballests, Y. Luch, M. J. Gosalbes, A. Granll, J. F. Marcos and L. Gonzalez-candelas. 2005. Understanding the basis of chilling injury in citrus fruit. *Acta Hort.* 682: 831-842.
- Lurie, S., M. Laamim, Z. Lapsker and E. Fallik. 1997. Heat treatments to decrease chilling injury in tomato fruit. Effects on lipids, pericarp lesions and fungal growth. *Physiol. Plant.* 100: 297-302.
- Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments of horticultural crops. *Hortic. Rev.* 22: 91-121.
- Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 14: 257-269.
- Lurie, S., Sonogo, L., Ben-Arie, R. 1987. Permeability, microviscosity and chemical changes in the plasma membrane during storage of apple fruit. *Sci. Hortic.* 32, 73-83.
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D. 2003. Physiological changes in pepino (*Solanum muricatum* Ait.) fruit stored at chilling and non-chilling temperatures. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 177-186.
- Martínez-Téllez, M.A., Ramos-Clamont, M.G., Gardea, A.A., Vargas-Arispuro, I. 2002. Effect of infiltrated polyamines on polygalacturonase activity and chilling

- injury responses in zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 295, 98-101.
- Martínez, Hernandez, 2010. Material vegetal y técnicas de cultivo. Jornadas nacionales sobre el granado: 29-41.
- Melgarejo, P., D. M. Salazar and F. Artes. 2000. Organic acid and sugar composition of harvested pomegranate fruit. *Euro. Food Res. Technol.* 211: 185-190.
- Melgarejo, P. and F. Artes. 2000. Total lipids content and fatty acid composition of oil seed from lesser known sweet pomegranate clone. *J. Food Agric.* 80: 1452-1454.
- Melgarejo 2010. El Granada, su problemática y sus usos. Jornadas nacionales sobre el granado: 7 – 26.
- Mirdehghan, S. H. and M. Rahemi. 2005. Effects of hot water treatment on reducing chilling injury of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruits during storage. *Acta Hort.* 682: 887-892.
- Mirdehghan, Rahemid, Castillo, Martinez, Romero, Serrano, Valero 2009. Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf-life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels
- Mirdehghan, Rahemi, Castillo, Martinez, Romero, Guillen, Valverde, Zapata, Serrano, Valero 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: Role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology* 44: 19–25.

- Mulas, M., M. T. Lafuente and L. Zacarias. 1996. Chilling effects on fatty acid composition of flavedo lipids in stored 'Fortune' mandarins. *Adv. Horti. Sci.* 2: 85-90.
- Mulas, M., M. T. Lafuente and L. Zacarias. 1997. Postharvest temperature conditioning and chilling effects on flavedo lipid composition of 'Fortune' mandarin. *Proc. Inter. Soc. Citric.* 2: 1132-1135.
- Nanda, S., Rao, D.V.S., Krishnamurthy, S. 2001. Effects of shrink film wrapping and storage temperature on the shelf life and quality of pomegranate fruits cv. Ganesh. *Postharvest Biol. Technol.* 22, 61-69.
- Neufeldt, V. E. 1988. Webster' s New World Dictionary, 3rd college ed. Simon and Schuster, New York.
- Palou, 2010. Enfermedades de poscosecha de la granada en la zona de Elche. *Jornadas nacionales sobre el granado.* 133-141.
- Pareek, Valero, Serrano, 2015. Postharvest biology and technology of pomegranate. *Wiley Online Library*: 19 March 2015. (wileyonlinelibrary.com)
- Patil, A. V. and A. R. Karale. 1990. Pomegranate In: T. K. Bose and S. K. Mitra (eds.). *Fruits: tropical and subtropical*. Naya Prokash, Calcutta, India. pp: 615-637.
- Poyrazoglu, E., V. Gokmen and N. Artik. 2002. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *J. Food Comp. Anal.* 15: 567-575.
- Rahemi, M. and S. H. Mirdehghan. 2004. Effect of temperature conditioning on reducing chilling injury of pomegranate fruits during storage. *Acta Hort.* 662: 87-91.

- Sayyari, Babalar, Kalantari, Serrano, Valero, 2009. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranate. *Postharvest Biology and Technology* 53: 152–154.
- Sayyari, Valero, Babalar, Kalantari, Zapata, Serrano, 2010. Prestorage oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage at 2 C. *Journal Agriculture Food Chem.* 58: 6804-6808.
- Sayyari, Babalar, Kalantari, Martinez-Romero, Guillén, Serrano, Valero, 2011. Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranate. *Food Chemistry* 124: 964-97.
- Serrano, M., M. C. Martínez-Madrid, G. Martínez, F. Riquelme, M. T. Petrel and F. Romojaro. 1996. Review: Role of polyamines in chilling injury of fruit and vegetables. *Food Sci. Technol. International* 2: 195-199.
- Serrano, M., M. C. Martínez-Madrid, M. T. Petrel, F. Riquelme and F. Romojaro. 1997. Modified atmosphere packaging minimizes increases in putrescine and abscisic acid levels caused by chilling injury in pepper fruit. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1668-1672.
- Serrano, M., M. C. Martínez-Madrid, F. Romojaro and F. Riquelme. 1998. CO₂ treatment of zucchini squash reduces chilling-induced physiological changes. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2465-2468.
- Serrano, M, Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F. Valero, D. 2004. Role of calcium and heat treatments in alleviating physiological changes induced by mechanical damage in plum. *Postharvest Biol. Technol.* 34, 155-167.

- Serrano, M, Martínez-Romero, D., Guillén, F. Valero, D. 2003. Effects of exogenous putrescine on improving shelf life of four plum cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 259-271.
- Shen, W., Nada, K., Tachibana, S. 2002. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars. *Plant Physiol.* 124, 431-439.
- Shewfelt, R. L. 1999. What is quality? *Postharvest Biol. Technol.* 15: 197-200.
- Smith, P. M. 1976. Minor crops In: N. W. Simmonds (ed.). *Evolution of Crop Plants*. Longman, London, UK. pp. 301-324.
- Valero, 2010. Innovaciones en los tratamientos post-recolección de granada. *Jornadas nacionales sobre el granado*: 143-151.
- Valero, D., D. Martínez-Romero and M. Serrano. 2002. The role of polyamines in the improvement of the shelf life of fruit. *Trends Food Sci. Technol.* 13: 228-234.
- Valero, D., D. Martínez-Romero, M. Serrano and F. Riquelme. 1999. Polyamine roles on the post-harvest of fruits: A review. In S. Pandalai (ed.). *Recent Research Developments in Agricultural and Food Chemistry*. Trivandrum, India: Research Signpost. pp. 39-55.
- Valero, D., Martínez-Romero, D., Serrano, M. Riquelme, F. 1998. Postharvest gibbereli and heat-treatment effects on polyamines, abscisic acid and firmness in lemons. *J Food. Sci.* 63, 611-615.
- Watada, A. E., R. C. Herner, A. A. Kadar, R. J. Romani and G. L. Staby. 1984. Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. *HortScience* 19:20- 21.

Woods, J.L. 1990. Moisture loss from fruits and vegetables. *Postharvest News Inform.* 1, 195-199.

